

Identifikasi Molekuler dan Posisi Filogenetik Ikan Sili (Mastacembelidae: *Macrognathus*) dari Sungai Brantas, Jawa Timur, berdasarkan DNA mitokondria Gen COI

Molecular Identification and Phylogenetic Position of the Spiny Eels
(Mastacembelidae: *Macrognathus*) from Brantas River, East Java, based on
mitochondrial DNA COI Gene

Wahyu Endra Kusuma^{1*}, Ifa Sufaichusan¹, Bela Fatma Hani Ayu Lestari¹,
Yuni Widayawati¹

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya,
Jalan Veteran, Ketawanggede, Lowokwaru, Kota Malang, 65145, Indonesia

*Korespondensi: wahyuendrak@ub.ac.id

ABSTRAK

Ikan sili (famili Mastacembelidae) adalah ikan yang tersebar secara alami dan terdistribusi luas di Pulau Jawa, khususnya di Sungai Brantas di Jawa Timur. Ikan ini memiliki nilai ekonomi yang tinggi sebagai sumber protein masyarakat lokal serta akhir-akhir ini menjadi populer sebagai ikan hias di kalangan penghobi. Pemenuhan kebutuhan pasar saat ini masih dipasok dari hasil tangkapan di alam yang menyebabkan populasinya menurun drastis. Informasi ilmiah dasar mengenai identifikasi spesies dan penentuan posisi filogenetik suatu spesies termasuk ikan sili sangat penting untuk dilakukan guna mendukung upaya budidaya, domestikasi serta menjaga kelestariannya di alam. Pada penelitian ini, spesimen ikan sili ditangkap dari daerah aliran Sungai Brantas, Jawa Timur pada dua lokasi di Malang dan Kediri. DNA mitokondria daerah *cytochrome c oxidase sub unit I* (COI) kemudian di sekuensing pada beberapa individu yang dipilih secara acak. Hasil analisis morfologi dan genetik menggunakan BLASTn menunjukkan bahwa spesimen yang diteliti dapat terkonfirmasi sebagai *Macrognathus aculeatus*. Analisis filogenetik dengan menggunakan metode *Bayesian Inference* menunjukkan bahwa spesies *M. aculeatus* memiliki kerabat terdekat dengan *M. arai* dari Bangladesh. Rekonstruksi filogenetik menunjukkan bahwa individu *M. aculeatus* dari Malang dan Kediri terkelompok menjadi satu clade dengan individu dari Mojokerto serta memiliki divergensi molekuler yang sangat kecil yang mengindikasikan bahwa mereka berasal dari populasi yang sama. Hasil penelitian ini dapat dijadikan informasi awal untuk merancang manajemen domestikasi, budidaya, serta konservasi yang efektif.

Kata kunci: analisis morfologi; Bayesian Inference; divergensi molekuler; domestikasi; konservasi;

ABSTRACT

The spiny eels (family Mastacembelidae) is a fish that naturally and widely distributed on Java Island, especially in the Brantas River of East Java. This fish has high economic value, as a source of protein for local people and has recently popular as an ornamental fish among hobbyists. To fulfill market needs, fishermen must catch the fish from nature, leading to a severe population decline. Basic scientific information regarding species identification and determining the phylogenetic position fish species including the spiny eels is very important in order to support aquaculture, domestication and maintain its sustainability in nature. Specimens of the spiny eels were collected from Brantas River

basin, East Java, at two localities in Malang and Kediri. Mitochondrial DNA from the cytochrome c oxidase subunit I was then sequenced on several randomly selected specimens. Results of morphological and genetic analysis using BLASTn showed that the specimens under study could be confirmed as *Macrognathus aculeatus*. Phylogenetic analysis using the Bayesian Inference method showed that *M. aculeatus* in this study has the closest relative to *M. arai* from Bangladesh. The phylogenetic reconstruction showed that individuals of *M. aculeatus* from Malang and Kediri were clustered together with individuals from Mojokerto with very shallow molecular divergence, indicating that they possibly originated from the same population. The results of this study can be used as basic information to design effective management of domestication, aquaculture, and conservation in the future.

Keywords: Bayesian Inference; conservation; domestication; morphological analysis; molecular divergence;

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan tingkat keanekaragaman iktiofauna terbesar di dunia, menjadi rumah lebih dari 4800 spesies ikan yang terdistribusi secara alami. Dari jumlah tersebut, lebih dari 1200 spesies merupakan ikan air tawar dan hampir 150 spesies diantaranya adalah endemik (Direktorat Jenderal Konservasi Sumber Daya Alam dan Ekosistem, 2019; Froese & Pauli, 2022). Dengan tingginya keanekaragaman hayati tersebut, Indonesia termasuk ke dalam salah satu negara mega-biodiversitas (*megadiverse countries*) dan titik pusat biodiversitas (*biodiversity hotspot*) (Mittermeier et al., 1997; Myers et al., 2000). Sayangnya, biodiversitas iktiofauna di Indonesia berada dalam tekanan yang mengarah ke kepunahan (Wibowo et al., 2019; Gustiano, Kurniawan, & Haryono, 2021). Tingginya laju kehilangan biodiversitas iktiofauna di Indonesia sering diasosiasikan dengan beberapa faktor terkait kegiatan ekonomi dan pertumbuhan jumlah penduduk. Faktor-faktor tersebut mengarah pada aktivitas antropogenik misalnya kerusakan habitat, pencemaran lingkungan, penangkapan berlebih serta introduksi spesies alien dan invasif (Cleary & deVantier, 2011; von Rintelen, Arida, & Häuser, 2017)

Ikan sili merupakan sebutan umum untuk kelompok ikan dalam famili Mastacembelidae. Di beberapa daerah yang berbeda, ikan sili disebut juga ikan

mirik, ikan berod dan ikan tilan. Famili Mastacembelidae terdiri dari tiga genera yaitu *Macrognathus*, *Mastacembelus* dan *Sinobdella* (Nelson, Grande, & Wilson, 2016; Fricke, Eschmeyer, & Van der Laan, 2023). Sementara *Sinobdella* adalah genus monotipik (*monotypic genus*) yang hanya memiliki satu anggota spesies *S. sinensis*, *Macrognathus* dan *Mastacembelus* memiliki banyak spesies dengan jumlah masing-masing 24 dan 64 spesies (Froese & Pauli, 2022; Fricke et al., 2023). Di Indonesia, khususnya di wilayah bagian barat, sampai saat ini terdistribusi sembilan spesies dari famili Mastacembelidae. Dari jumlah tersebut, lima spesies termasuk genus *Macrognathus* dan empat spesies dari genus *Mastacembelus* (Froese & Pauli, 2022). Di Pulau Jawa, tercatat empat spesies Mastacembelidae yang terdistribusi secara alami yaitu *Macrognathus aculeatus*, *M. maculatus*, *Mastacembelus erythrotaenia* dan *M. unicolor* (Kottelat et al., 1993).

Ikan sili merupakan salah satu komoditas dengan nilai ekonomi yang tinggi (Meijaard et al., 2006). Ikan ini merupakan sumber protein masyarakat lokal dan bahkan pada daerah tertentu, menjadi makanan khas yang populer dan digemari, misalnya di Lamongan, Jawa Timur (Rahma, 2021). Selain itu, ikan sili akhir-akhir ini menjadi populer sebagai ikan hias di kalangan para penghobi. Namun sayangnya, beberapa laporan penelitian, hasil wawancara dengan nelayan maupun pengamatan di lapang

menunjukkan bahwa populasi ikan sili di alam telah menurun (Hadiaty, 2011; Andani, Herawati & Zahidah, 2017; pengamatan pribadi). Kecenderungan penurunan populasi ikan sili juga terjadi di daerah aliran Sungai Brantas. Sungai Brantas yang merupakan sungai terpanjang ke dua di Pulau Jawa telah mengalami kemunduran kualitas mutu air akibat dari pencemaran serta kerusakan lingkungan (Yetti, Soedharma, & Haryadi, 2011; Lusiana & Rahadi, 2018). Selain itu, keberadaan spesies ikan alien invasif juga mengancam keberadaan spesies indigenous termasuk ikan sili (Syafei & Sudinno, 2018).

Upaya domestikasi dan budidaya ikan sili telah dilakukan meskipun belum berhasil pada tingkatan komersial (misalnya pada penelitian Mukti *et al.*, 2009), sehingga pemenuhan kebutuhan pasar masih mengandalkan hasil tangkap di alam. Upaya domestikasi ikan sili sangat penting untuk dilakukan baik sebagai upaya konservasi maupun pemenuhan kebutuhan penyediaan benih pada kegiatan budidaya. Untuk melakukan kegiatan domestikasi dengan efektif dan tepat, informasi dasar misalnya mengenai identifikasi spesies yang akurat serta posisi filogenetik diantara spesies lain pada pada famili Mastacembelidae adalah sangat penting.

Identifikasi spesies yang akurat menjadi fundamental dan dasar untuk melakukan domestikasi, monitoring ekologi, mengevaluasi strategi konservasi dan mengestimasi dinamika populasi suatu spesies di alam. Kesalahan dalam identifikasi spesies dapat menyebabkan dampak negatif yang parah, misalnya perancangan strategi konservasi yang tidak tepat, mengabaikan spesies yang terancam punah dan sebaliknya memberikan perhatian kepada spesies yang tidak dilindungi, sampai dengan abai terhadap populasi ikan yang mengalami penurunan populasi (Teletchea, 2009; Austen *et al.*, 2016). Sementara itu, rekonstruksi filogenetik untuk menentukan posisi filogenetik suatu spesies menjadi penting untuk mengetahui hubungan kekerabatan,

sejarah evolusi, adaptasi serta dapat pula memprediksi perubahannya di masa depan (Ryder, 1986; Wiley, 2010; Strecker *et al.*, 2011).

DNA mitokondrial daerah *cytochrome oxidase c subunit I* (COI) merupakan marka molekuler yang biasa disebut sebagai *barcode region* pada aplikasi *DNA barcoding*. Fragmen sekuen COI sepanjang ~ 650 bp, digunakan sebagai marker standar untuk melakukan identifikasi spesies yang cepat dan akurat serta sering pula digunakan pada analisis filogenetik (Hebert *et al.*, 2003a; Hebert, Ratnasingham, & DeWaard, 2003b; Dahrudin *et al.*, 2017; Fadli *et al.*, 2020; Pandey *et al.*, 2020). Dalam penelitian ini, kami melakukan koleksi spesimen ikan sili di daerah aliran Sungai Brantas untuk melakukan identifikasi spesies secara akurat dengan menggunakan analisis morfologi dan genetik serta menentukan posisi filogenetiknya diantara spesies lainnya dalam genus *Macrogathus*.

METODE PENELITIAN

Koleksi spesimen di Sungai Brantas

Sampling di daerah aliran Sungai Brantas, Jawa Timur, dilakukan selama tujuh bulan, dimulai dari bulan Oktober 2021 sampai dengan bulan April 2022. Individu ikan sili dapat ditangkap dari Bendungan Waru Turi Desa Gampengrejo, Kecamatan Gampengrejo, Kabupaten Kediri dan Bendungan Dompok, Desa Gampingan, Kecamatan Pagak, Kabupaten Malang, Jawa Timur (Gambar 1, Tabel 1). Spesimen ikan sili ditangkap dengan menggunakan alat tangkap pancing. Individu ikan sili yang ditangkap di lapang kemudian dimatikan dalam kondisi segar dengan cara direndam di dalam air es. Identifikasi awal di lapang menunjukkan bahwa spesimen yang ditangkap merupakan spesies dari genus *Macrogathus*. Sebagian kecil dari sirip pectoral bagian kanan tubuh kemudian dipotong dan disimpan dalam larutan TNESU-8 buffer untuk analisis molekuler (Asahida *et al.*,

1996). Spesimen ikan sili diawetkan dan difiksasi dengan larutan formalin 10% untuk penyimpanan suhu ruang dalam jangka waktu yang lama. Setiap spesimen kemudian disimpan di Depositori

Ichthyologicum Brawijaya, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya dan masing-masing individu telah diberi nomor voucher (Tabel 1).



Gambar 1. Peta lokasi sampling ikan sili di Kediri dan Malang, Jawa Timur. Garis berwarna kuning menunjukkan aliran Sungai Brantas yang mengalir ke arah Laut Jawa.

Tabel 1. Lokasi Sampling Ikan Sili di Daerah Aliran Sungai Brantas, Jawa Timur

| Lokasi | Titik Koordinat | | Jumlah Sampel | Nomor Voucher | Spesimen yang disekuensing |
|---|-----------------|------------|---------------|----------------------------|--|
| | S | E | | | |
| Bendungan Waru Turi Desa Gampengrejo, Kecamatan Gampengrejo, Kabupaten Kediri | -8.18768 | 112.507497 | 10 | UB.1.321.1- UB.1.321.10 | UB.1.321.2, UB.1.321.6, UB.1.321.9 |
| Bendungan Dempok, Desa Gampingan, Kecamatan Pagak, Kabupaten Malang | -7.7633013 | 112.022479 | 10 | UB.1.322.1- UB.1.322.10 | UB.1.322.3, UB.1.321.6, UB.1.321.8 |

Identifikasi morfologi

Identifikasi secara morfologi dilakukan dengan mengacu pada Roberts (1985) dan Kottelat *et al.*, (1993). Analisis morfologi dilakukan dengan mengukur karakter morfometri menggunakan *digital callipers* dengan tingkat akurasi 0.1 mm, misalnya panjang standar, panjang kepala, lebar badan, panjang *snout*, dan diameter mata.

Karakter meristik dihitung dengan mengamati misalnya: jumlah duri lunak sirip punggung, jumlah duri lunak sirip ekor, jumlah duri lunak sirip anal. Selain itu pengamatan pola warna tubuh juga dilakukan pada spesimen yang ditangkap baik dalam kondisi segar maupun saat sudah diawetkan. Identifikasi morfologi awal di laboratorium menunjukkan bahwa spesimen yang berhasil ditangkap termasuk dalam genus *Macrognathus*.

Ekstraksi DNA, *Polymerase Chain Reaction* dan Sekuensing

Sebanyak total enam individu (dari tiga individu pada masing-masing lokasi) diambil secara acak untuk analisis genetik. Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan metode *phenol chloroform* dengan prosedur yang dijelaskan oleh Asahida *et al.*, (1996). Prosedur singkatnya adalah sebagai berikut: proses denaturasi protein dimulai dengan menambahkan 20 µl Proteinase K (20 mg/ml) di tube 1,5 ml yang berisi sampel jaringan sirip pektoral sebelah kanan di dalam larutan TNESU8 buffer. Larutan ini kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 15-20 jam. Selanjutnya, ditambahkan larutan *phenol: chloroform* (perbandingan 1:1). Proses selanjutnya adalah alkohol dingin ditambahkan untuk proses presipitasi DNA. DNA yang sudah terpresipitasi kemudian dilarutkan dengan menggunakan TE-buffer. Sampel DNA kemudian disimpan pada suhu sekitar -20°C untuk proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Gen COI pada DNA mitokondria sepanjang ~ 680 bp diamplifikasi menggunakan PCR dengan primer umum untuk ikan (Ward *et al* 2005). Urutan primer forward adalah Fish F1 5' TCAACCAACCACAAAGACATTGGC AC 3' sedangkan urutan untuk primer reverse adalah Fish R1 5' TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAAT CA 3'. Proses PCR dilakukan pada 10 µl larutan reaksi dengan enzim DNA polymerase dengan menggunakan . PCR dilakukan dengan 30 siklus yang terdiri dari 98°C selama 5 detik, 55°C selama 15 detik dan 72°C selama 20 detik. Untuk proses sekuensing, produk PCR kemudian dikirim ke Apical Scientific Sdn Bhd, Malaysia. Sekuensing dilakukan dengan menggunakan metode Sanger. Sekuen DNA yang didapat kemudian diedit dan disusun menggunakan perangkat Chromas (Technelysium, DNA Sequencing Software). Sekuen kemudian disejajarkan dan diinspeksi secara manual dengan menggunakan

perangkat Mesquite v3.11 (Maddison & Maddison, 2017).

Analisis BLASTn dan Filogenetik

Sekuen DNA mitokondrial COI ikan sili pada penelitian ini dianalisis dengan menggunakan metode *Basic Local Alignment Search Tool nucleotide* (BLASTn) untuk mengetahui tingkat kemiripan sekuennya dengan sekuen spesies lain yang disimpan di *GenBank*. Identifikasi spesies secara genetik dilakukan berdasarkan tingkat kemiripan 10 sekuen teratas dari hasil analisis BLASTn.

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi di laboratorium serta hasil analisis BLASTn, individu yang didapat saat sampling dapat diidentifikasi sebagai spesies di dalam genus *Macrogathus*. Dengan demikian, pada analisis filogenetik, sekuen DNA mitokondrial region COI pada enam individu ikan sili selanjutnya digabungkan dengan sekuen species *Macrogathus* yang disimpan dalam *GenBank*. Dari 24 species valid pada genus *Macrogathus*, hanya 13 spesies yang memiliki sekuen COI yang tersimpan di *GenBank*. Dari jumlah tersebut, hanya 10 spesies yang sekuen COI nya terpublikasi di jurnal internasional. Berdasarkan alasan ini, dataset sekuen COI untuk analisis filogenetik terdiri dari 18 spesies yang terdiri dari enam sekuen pada penelitian ini, 10 sekuen spesies *Macrogathus* dari *GenBank* serta dua spesies ourgroup (*Mastacembelus ellipsifer* dan *M. taitaensis*).

Analisis filogenetik dilakukan dengan menggunakan metode Bayesian Inference pada perangkat lunak MrBayes v3.12 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). Karena keterbatasan model substitusi yang tersedia dalam perangkat lunak ini, kami menetapkan model evolusi paling kompleks yaitu GTR+I+G dengan 4 kategori *gamma* untuk semua partisi. Analisis dimulai dari pohon yang dihasilkan secara acak, proses *Markov chain Monte Carlo* (MCMC) awalnya ditetapkan pada 2.000.000 generasi dan

berlanjut hingga nilai *Average Standard Deviation of Split Frequency* menjadi kurang dari 0,01. Secara standar, analisis dilakukan melalui dua proses independen dengan empat rantai MCMC simultan pada suhu 0,20. Sebanyak 25% generasi pertama adalah dibuang sebagai "burnin" setelah skor kemungkinan mencapai stasioneritas. Pohon diambil sampelnya setiap 100 generasi dan pohon konsensus mayoritas 50% dengan *Bayesian Posterior Probabilities* (BPP) pada node dibangun berdasarkan pohon dari generasi yang tersisa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Sampling dan Catatan Habitat Ikan Sili

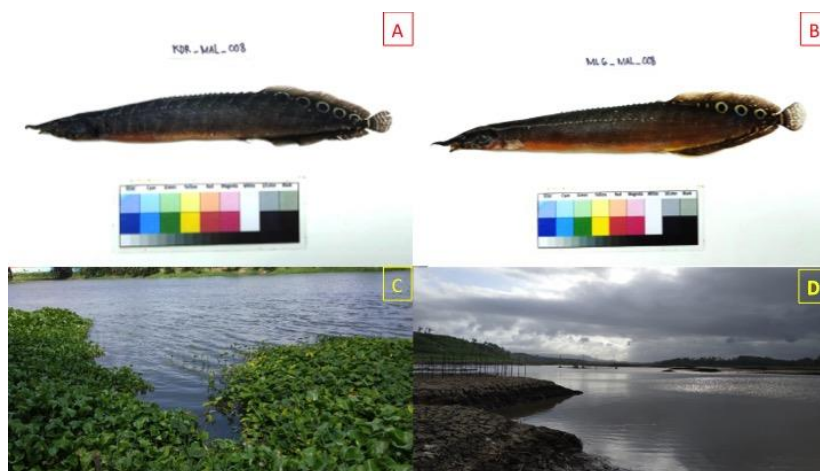
Sampling lapangan untuk mendapatkan individu ikan sili dilakukan di lima lokasi di sepanjang daerah aliran Sungai Brantas. Namun demikian, spesimen hanya berhasil ditangkap dari dua lokasi yaitu dari Kediri dan Malang dengan jumlah masing-masing lokasi sebanyak 10 individu. Meskipun koleksi sampel dilakukan lebih dari satu kali pada masing-masing lokasi, namun di tiga lokasi lain tetap tidak berhasil didapatkan individu ikan sili.

Pengamatan di lokasi sampling menunjukkan bahwa ikan sili di Kediri dan Malang cenderung mendiami daerah sungai yang memiliki banyak vegetasi

tanaman di bagian pinggirannya, dengan dasar substrat yang berlumpur atau berpasir. Beberapa catatan dari penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ikan sili cenderung menyukai habitat berlumpur atau berpasir karena ikan ini biasa menenggelamkan diri di substrat tersebut. Selain itu, ikan ini banyak juga ditemukan di serasah dedaunan di sungai serta di tanaman air di sepanjang sungai (Kottelat & Widjanarti, 2005; Mukti *et al.*, 2009; Froese & Pauli, 2022). Gambar lokasi sampling ikan sili dan contoh foto spesimen yang ditangkap dapat dilihat pada Gambar 2.

Identifikasi spesies secara morfologi dan genetik

Spesies pada famili Mastacembelidae relatif sulit untuk dibedakan antara satu dengan lainnya. Klasifikasi serta identifikasi spesies yang akurat menjadi tantangan tersendiri pada spesies dari famili ini. Hal ini disebabkan karena beberapa karakter morfologi kunci untuk mengidentifikasi antar spesies dapat bervariasi seiring dengan tahapan pertumbuhan ikan atau yang biasa disebut sebagai variasi *ontogeny*. Selain itu, karakter morfologi kunci tersebut seringkali tumpang tindih di beberapa spesies (Britz 1996; Tran *et al.*, 2013; Duong *et al.*, 2020).



Gambar 2. Individu ikan sili yang ditangkap dari Kediri (A) dan Malang (B) dengan panjang standar: 17,2 cm dan 19,4 cm serta kode voucher UB.1.321.8 dan UB.1.322.9. Foto lokasi sampling ikan sili di Kediri (C) dan Malang (D).

Spesies dalam genus *Macrognathus* dapat dibedakan dengan genus *Mastacembelus* berdasarkan karakter kunci sebagai berikut: pinggiran lubang hidung depan memiliki 6 vs. 2 tonjolan halus seperti jari kecil; 14-31 vs. 33-40 duri keras sirip dorsal; 48-70 vs. 68-85 duri lunak sirip dorsal dan sirip anal (Kottelat et al., 1993). Berdasarkan pengamatan morfologi secara lebih teliti, spesimen yang ditangkap dari Kediri dan Malang dapat dikategorikan sebagai spesies pada genus *Macrognathus* sesuai ciri-ciri di atas. Sementara di tingkat spesies, spesimen dari kedua lokasi tersebut dapat diidentifikasi sebagai *Macrognathus aculeatus* karena memiliki 6 tonjolan halus seperti jari kecil, tubuhnya terdiri dari 14-17 pita berwarna gelap berbentuk lonjong melintang di badan serta absennya bercak warna pada sirip ekor. Ciri-ciri ini sesuai dengan karakter kunci *M. aculeatus* seperti yang dijelaskan oleh Kottelat et al., (1993) dan Froese & Pauli (2022). Selain itu, spesies dengan ciri morfologi paling mirip

dengan *M. aculeatus* adalah *M. siamensis*. Namun demikian *M. siamensis* tidak terdistribusi di Indonesia (Kottelat & Widjanarti, 2005). Beberapa karakter yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi *M. aculeatus* dapat dilihat pada Tabel 2.

Enam individu yang disekuensing menghasilkan panjang DNA mitokondria COI sebesar 655 bp. Sekuen masing-masing individu tersebut selanjutnya dianalisis dengan menggunakan metode BLASTn. Analisis BLASTn menunjukkan bahwa, individu dari Kediri dan Malang memiliki tingkat kemiripan sekuen DNA mitokondria COI > 99% dari *M. aculeatus* yang terdapat di *GenBank* yang memiliki lokasi sampling di Mojokerto, Jawa Timur (Tabel 3). Hasil ini mengindikasikan bahwa spesimen yang ditangkap dari Kediri dan Malang adalah *M. aculeatus*. Dengan kata lain, hasil analisis genetik melalui metode BLASTn konsisten dengan hasil analisis morfologi.

Tabel 2. Karakter kunci yang digunakan untuk mengidentifikasi spesies *M. aculeatus*

| Karakter Kunci | <i>M. siamensis</i> (Kottelat & Widjanarti 2005; Froese & Pauli 2022) | <i>M. aculeatus</i> (Kottelat et al. 1993; Froese & Pauli 2022) | <i>M. aculeatus</i> Kediri (n = 10) | <i>M. aculeatus</i> Malang (n = 10) |
|--|--|--|---|---|
| Duri keras sirip dorsal | 13-19 | 14-20 | 15-21 | 18-19 |
| Tonjolan halus seperti jari kecil di lubang hidung depan | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Pita berwarna gelap berbentuk lonjong melintang di badan | 14-17 | 14-17 | 14-16 | 14-16 |
| Bercak warna pada sirip ekor | 3-6 | tidak ada | tidak ada | tidak ada |

Tabel 3. Sepuluh sekuen termirip hasil analisis BLASTn

| No | Nama Ilmiah | Maximum Score | Total Score | Query Coverage (%) | Percent Identity (%) | Accession Length (bp) | Nomor Akses <i>GenBank</i> | Lokasi* | Literatur** |
|----|--------------------------|---------------|-------------|--------------------|----------------------|-----------------------|----------------------------|---------|-------------|
| 1 | <i>M. aculeatus</i> | 1199 | 1199 | 100 | 99,69 | 658 | KU692605 | 1 | a |
| 2 | <i>M. aculeatus</i> | 1199 | 1199 | 100 | 99,54 | 658 | KU692603 | 1 | a |
| 3 | <i>M. tapirus</i> | 1182 | 1182 | 99 | 99,39 | 652 | KT944620 | - | - |
| 4 | <i>M. tapirus</i> | 1166 | 1166 | 99 | 98,93 | 652 | KT944619 | - | - |
| 5 | <i>M. aculeatus</i> | 1140 | 1140 | 95 | 99,68 | 623 | KU692602 | 2 | a |
| 6 | <i>M. aculeatus</i> | 1138 | 1138 | 94 | 99,68 | 622 | KU692604 | 2 | a |
| 7 | <i>M. tapirus</i> | 904 | 904 | 99 | 91,71 | 652 | KT944618 | - | - |
| 8 | <i>M. tapirus</i> | 904 | 904 | 99 | 91,71 | 652 | KT944617 | - | - |
| 9 | <i>M. dorsiocellatus</i> | 859 | 859 | 99 | 90,48 | 652 | KT944636 | - | - |
| 10 | <i>M. dorsiocellatus</i> | 856 | 856 | 100 | 90,23 | 657 | MN605505 | 3 | b |
| 11 | <i>M. aculeatus</i> | 1199 | 1199 | 100 | 99,69 | 658 | KU692605 | 1 | a |

* 1: Mojokerto, Jawa Timur; 2. Lumajang, Jawa Timur; 3. Myanmar

** a: Dahruddin et al. 2017, b: Bolotov et al. 2020

Hasil analisis BLASTn sebenarnya juga menunjukkan tingkat kemiripan > 99% dengan spesies *M. tapirus*, namun kami menganggap *M. tapirus* dari *GenBank* kemungkinan besar adalah salah identifikasi. Perbandingan sekuen dengan besar kemiripan genetik (*genetic similarity*) > 98% merupakan ambang batas *conspecific* atau spesies yang sama (Leray et al., 2019; Dinh et al., 2019).

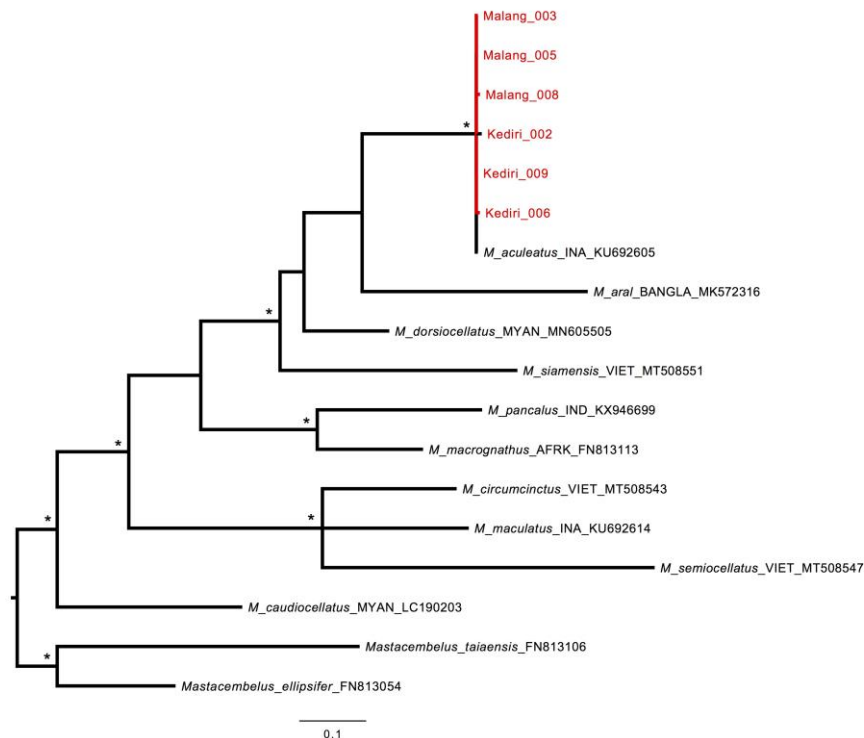
Posisi filogenetik ikan sili dari Sungai Brantas

Data genetik sekuen DNA mitokondria COI yang disimpan di *GenBank* sangat terbatas untuk famili Mastacembelidae. Hal ini menunjukkan belum banyak penelitian genetik pada ikan sili, khususnya dari genus *Macrognathus* dan spesies *M. aculeatus*. Sebagian besar sekuen DNA mitokondrial DNA adalah hasil penelitian yang belum dipublikasikan. Meskipun sekuen DNA yang ada pada *GenBank* dapat dipercaya akurasinya (Leray et al., 2019), namun penggunaannya tetap harus dilakukan dengan hati-hati karena adanya kemungkinan kesalahan identifikasi spesies yang dilakukan oleh peneliti (Meiklejohn et al., 2019; Locatelli et al., 2020). Dengan alasan ini, kami hanya menggunakan sekuen dari *GenBank* yang sudah terpublikasi di jurnal internasional bereputasi untuk analisis filogenetik.

Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan dengan menggunakan sekuensing DNA mitokondria COI sepanjang 655 bp. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik dengan menggunakan *Bayesian Inference* menunjukkan bahwa individu dari Kediri dan Malang terkelompok menjadi satu dalam satu clade (grup) dengan spesies *M. aculeatus* yang ditangkap dari Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur (kode akses

GenBank: KU692605) (Gambar 3) dengan nilai BPP yang sangat tinggi (dengan nilai 1 (satu)). Hal ini konsisten dengan temuan analisis morfologi dan BLASTn yang menunjukkan bahwa individu dari Kediri dan Malang dapat diidentifikasi sebagai *M. aculeatus*. Selain itu, *M. aculeatus* memiliki kerabat terdekat dengan *M. arai*. Kedekatan posisi filogenetik ini kemungkinan besar dapat berubah jika analisis filogenetik melibatkan lebih banyak spesies pada genus *Macrognathus*.

Individu *M. aculeatus* dari Kediri, Malang dan Mojokerto memiliki perbedaan genetik yang sangat rendah. Hal ini dapat dilihat pada pohon filogenetik (Gambar 3) yang menunjukkan bahwa masing-masing individu terkelompok menjadi satu *clade* dengan divergensi genetik yang sangat dangkal. Kecilnya divergensi genetik ini dapat diartikan bahwa individu yang ditangkap dari ketiga lokasi tersebut kemungkinan berasal dari populasi yang sama. Ketiga lokasi ini masih berasal dari satu aliran yang sama di daerah aliran Sungai Brantas. Individu pada masing-masing lokasi dapat secara bebas bertukar gen karena mereka secara mudah berpindah tempat. *Macrognathus aculeatus* memang dikenal mudah bermigrasi ke lokasi lain (Froese & Pauli, 2022). Tingginya kemiripan genetik di antara populasi yang berbeda menunjukkan bahwa tidak terdapat hambatan geografis yang menghalangi pertukaran gen, sehingga aliran genetiknya (*gene flow*) sangat tinggi diantara lokasi geografi yang berbeda tersebut (Sundqvist et al., 2016; Cheng, Kao & Dong, 2020). Aliran gen yang tinggi ini menyebabkan tidak adanya diferensiasi populasi (Wright, 1978; Hartl & Clark, 1997).



Gambar 3. Pohon Filogenetik *Bayesian Inference* menunjukkan bahwa individu dari Kediri dan Malang memiliki kekerabatan paling dekat dengan *M. arai* yang ditangkap dari Bangladesh. Tanda asterik (*) pada titik percabangan menunjukkan nilai BPP sebesar 1 (satu). Setiap singkatan pada nama spesies adalah sebagai berikut: INA: Indonesia; BANGLA: Bangladesh; MYAN: Myanmar; VIET: Vietnam; IND: India; yang menunjukkan lokasi spesimen. Individu pada penelitian ini diberi tanda warna merah.

Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa ikan sili dari Kediri, Malang dan Mojokerto memiliki divergensi genetik yang sangat kecil yang dapat diartikan kemungkinan besar berasal dari populasi yang sama. Hal memberikan implikasi praktis bahwa pada kegiatan domestikasi, koleksi induk dapat dilakukan dari tiga lokasi tersebut (Kediri, Malang dan Mojokerto) dan perkawinan silang diantara mereka dapat dilakukan. Selain itu, pelepasan kembali benih atau individu (*restocking*) *M. aculeatus* di masing-masing lokasi dapat dilakukan tanpa memperhatikan asal-usul lokasi induk. Penelitian yang lebih mendalam di masa depan, misalkan dengan melibatkan lebih banyak lokasi sampling dan individu serta melakukan analisis variasi genetik, penting dilakukan agar mendapatkan informasi

yang komprehensif demi merancang strategi domestikasi yang lebih efektif.

KESIMPULAN

Ikan sili merupakan komoditas yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Upaya melakukan domestikasi sebagai langkah awal kegiatan budidaya dan konservasi sangat penting dilakukan karena kecenderungan menurunnya jumlah populasi ikan ini di alam. Informasi dasar berupa identifikasi spesies yang akurat serta posisi filogenetik diantara spesies dari genus *Macrogathus* yang lain sangat penting untuk diketahui. Analisis morfologi dan genetik menunjukkan bahwa spesimen yang ditangkap dari Kediri dan Malang dapat secara akurat diidentifikasi sebagai *M. aculeatus*. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa individu dari Kediri dan Malang memiliki

kemiripan genetik yang sangat tinggi yang menunjukkan mereka kemungkinan besar masih dalam satu populasi yang sama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Akhsan Fikrillah Paricahya yang membantu melakukan koleksi ikan sili di lapang. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Dr. Nia Kurniawan karena telah mengizinkan penggunaan laboratorium molekuler Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya pada analisis genetik. Apresiasi juga kami sampaikan kepada Resang Hanan Samiaji, Roofi Cahyaningtyas, Bekti Ahmad Sejati dan Reni Octavia yang telah membantu pelaksanaan penelitian. Penelitian ini dibiayai oleh dana Hibah Penelitian dan Pengabdian Masyarakat FPIK UB dengan dana PNBP tahun anggaran 2022, nomor 4687/UN10.F06/KS/2022. Ucapan apresiasi kami sampaikan kepada dua reviewer anonymous yang telah memberikan rekomendasi penyempurnaan versi awal dari manuskrip.

DAFTAR PUSTAKA

- Andani, A., Herawati, T., Zahidah, Hamdani, H. (2017). Identifikasi dan inventarisasi ikan yang dapat beradaptasi di Waduk Jatigede pada tahap inundasi awal. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 8(2): 28-35).
- Asahida, T., Kobayashi, T., Saitoh, K., Nakayama, I., 1996. Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffer containing high concentration of urea. *Fisheries Science*, 62, 727-730.
- Austen, G., Bindemann, M., Griffiths, R. Roberts, D. L. (2016). Species identification by experts and non-experts: comparing images from field guides. *Scientific Reports*, 6, 33634. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep33634>.
- Britz, R. (1996). Ontogeny of the ethmoidal region and hyopalatine arch in *Macrogathus pancalus* (Percomorpha, Mastacembeloidei), with critical remarks on Mastacembeloid inter- and intrarelations. *American Museum Novitates*, 3181:1-18.
- Cheng, J., Kao, H., & Dong, S. (2020). Population genetic structure and gene flow of rare and endangered *Tetraena mongolica* Maxim. revealed by reduced representation sequencing. *BMC Plant Biology*, 20, 391. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02594-y>.
- Cleary, L., & DeVantier, L. (2011). Indonesia: Threats to the country's biodiversity. *Encyclopedia of Environmental Health*, 187-197. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52272-6.00504-3>.
- Dahrudin, H., Hutama, A., Busson, F., Sauri, S., Hanner, R., Keith, P., Hadiaty, R., Hubert, N. (2017). Revisiting the ichthyodiversity of Java and Bali through DNA barcodes: taxonomic coverage, identification accuracy, cryptic diversity and identification of exotic species. *Molecular Ecology Resources*, 17(2): 288-299. DOI: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12528>.
- Dinh, T. D., Ngatia, J. N., Cui, L. Y., Ma, Y., Dhamer, T. D., Xu, Y. C. (2019). Influence of pairwise genetic distance computation and reference sample size on the reliability of species identification using Cyt b and COI gene fragments in a group of native passerines. *Forensic Science International: Genetics*, 40, 85-95.
- Direktorat Jenderal Konservasi Sumber Daya Alam dan Ekosistem. (2019). The sixth national report to the convention on biological diversity. Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan.
- Duong, T. Y., Tran, L. V. D., Nguyen, N. T. T., Jamaluddin, J. A. F., Azizah,

- M. N. S. (2020). Unravelling taxonomic ambiguity of the Mastacembelidae in the Mekong delta (Viet nam) through DNA barcoding and morphological approaches. *Tropical Zoology*, 33 (2): 63–76.
- Fadli, N., Mohd Nor S. A., Othman, A. S., Sofyan, H., Muchlisin, Z. A. (2020). DNA barcoding of commercially important reef fishes in Weh Island, Aceh, Indonesia. *PeerJ*. 5(8): e9641. doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.9641>.
- Fricke, R., Eschmeyer, W. N., & Van der Laan, R. (eds) 2023. Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>). Electronic version accessed 29 January 2023.
- Froese, R., & Pauly, D., (Eds.). (2022). FishBase. World Wide Web electronic publication. Available from <http://fishbase.org/>. Accessed on December 23, 2022.
- Gustiano, R., Kurniawan, K., Haryono, H. (2021). Optimizing the utilization of genetic resources of Indonesian native freshwater fish. *Asian Journal of Conservation Biology*, 10(2): 189-196. DOI: <https://doi.org/10.53562/ajcb.67022>
- Hadiaty, R. K. (2011). Diversitas dan hilangnya jenis-jenis ikan di Sungai Ciliwung dan Sungai Cisadane. *Berita Biologi*, 10(4): 491-504.
- Hartl, D. L., & Clark, G. C. (1997) Principles of Population Genetics. Sinauer Associates, Sunderland.
- Hebert, P. D., Cywinska A., Ball S. L., DeWaard J. R. (2003a). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270: 313-321. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2118>.
- Hebert, P. D., Ratnasingham S., DeWaard J. R. (2003b). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergence among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* (Suppl), 270: S96-S99. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>.
- Kottelat, M., & Widjanarti, E. (2005). The fishes of the Danau Sentarum National Park and the Kapuas Lakes area, Kalimantan Barat, Indonesia. *Raffles Bulletin of Zoology*, Supplement, 13: 139-173.
- Kottelat, M., Whitten, A. J., Kartikasari, S. N., Wirjoatmodjo, S. (1993). Freshwater fishes of western Indonesia and Sulawesi. Periplus Editions, Hong Kong. 221p.
- Leray, M., Knowlton, N., Ho, S. L., Machida, R. J. (2019). GenBank is a reliable resource for 21st century biodiversity research. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 116(45): 22651-22656. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1911714116>.
- Locatelli, N. S., McIntyre, P. B., Therkildsen, N. O., Baetscher D. S. (2020). GenBank's reliability is uncertain for biodiversity researchers seeking species-level assignment for eDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 117(51):32211-32212. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2007421117>.
- Lusiana, N., & Rahadi, B. (2018). Prediksi distribusi pencemaran air sungai brantas hulu kota batu pada musim hujan dan kemarau menggunakan metode spasial inverse distance weighted. *Ecotrophic*, 12(2): 211-224.
- Maddison, W. P., & Maddison, D. R. (2017). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.11 <http://mesquiteproject.org>
- Meijaard, E., Sheil, D., Nasi, R., Augeri, D., et al. (2006). Hutan pasca pemanenan: Melindungi satwa liar dalam kegiatan hutan produksi di

- Kalimantan. Bogor: CIFOR, 384p.
- Meiklejohn, K. A., Damaso, N., Robertson, J. M. (2019) Assessment of BOLD and GenBank – Their accuracy and reliability for the identification of biological materials. *PLoS ONE*, 14(6): e0217084. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217084>.
- Mukti, A. T., Arief, M., Satyantini, W. H., Mubarak, A. S. (2009). Kajian penyebaran populasi dan reproduksi serta upaya domestikasi budidaya ikan sili (*Macrogathus aculeatus*) sebagai komoditas unggulan daerah kabupaten Lamongan. *Laporan Hibah Penelitian Strategis Nasional*, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., da Fonseca, G. A. B., Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*. 403:853–858. DOI: <https://doi.org/10.1038/35002501>.
- Nelson, J.S., Grande, T. C., Wilson, M. V. H. (2016). *Fishes of the world*. Fifth edition. John Wiley & Sons, Inc., New York. 725 p.
- Pandey, P. K., Singh, Y. S., Tripathy, P. S., Kumar, R., Abujam, S. K., Parhi, J. (2020). DNA barcoding and phylogenetics of freshwater fish fauna of Ranganadi River, Arunachal Pradesh. *Gene*. 2020 Sep 5;754:144860. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144860>.
- Rahma, Y. A. (2021). Kajian morfologi ikan sili pada nasi boranan makanan khas daerah Lamongan Provinsi Jawa Timur. *Jurnal Matematika dan Sains*, 1(1): 23-30. DOI: <https://doi.org/10.55273/jms.v1i1.78>.
- Roberts, T. R. (1985). Systematic review of the Mastacembelidae or siny eels of Burma and Thailand, with description of two news species of *Macrogathus*. *Japanese Journal of Ichthyology*, 33(2): 95-109.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19: 1572-1574.
- Ryder, O. A. (1986). Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology & Evolution*, 1(1): 9-10.
- Sundqvist, L., Keenan, K., Zackrisson, M., Prodöhl, P., Kleinhas, D. (2016). Directional genetic differentiation and relative migration. *Ecology and Evolution*, 6(11): 3461-3475. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.2096>.
- Strecker, A. L., Olden, J. D., Whittler, J. B., Paukert, C. P. (2011). Defining conservation priorities for freshwater fishes according to taxonomic, functional, and phylogenetic diversity. *Ecological Application*, 21(8): 3002-3013.
- Syafei, L. S., Sudinno, D. (2018). Ikan asing invasif, tantangan keberlanjutan biodiversitas perairan. *Jurnal Penyuluhan Perikanan dan Kelautan*, 12(3): 145-161. DOI: <https://doi.org/10.33378/jppik.v12i3.106>.
- Teletchea, F. (2009). Molecular identification methods in fish species: reassessment and possible applications. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 19:265-293. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11160-009-9107-4>.
- Tran, D.D., Shibukawa, K., Nguyen, T. P., Ha, P. H., Tran, X. L., Mai, V. H., Utsugi, K. (2013). *Fishes of the Mekong Delta, Viet Nam*. Viet Nam: Can Tho University Publishing House. 174 pp.
- von Rintelen, K., Arida, E., Häuser, C. (2017). A review of biodiversity-related issues and challenges in megadiverse Indonesia and other Southeast Asian countries. *Research Ideas and Outcomes*, 3: 220860. DOI: <https://doi.org/10.3897/rio.3.e20860>
- Wibowo, A., Atminarso, D., Baumgartner, L., Vasemagi, A.

- (2019). High prevalence of non-native fish species in a remote region of the Memberamo River, Indonesia. *Pacific Conservation Biology*, 26(3): 293-300. DOI: <https://doi.org/10.1071/PC19004>.
- Wiley, E. O. (2010). Why Trees Are Important. *Evolution: Education and Outreach*, 3: 499–505. <https://doi.org/10.1007/s12052-010-0279-0>.
- Wright, S. (1978). *Evolution and the genetics of population, variability within and among natural populations*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Yetti, E., Soedharma, D., Haryadi, S. (2011). Evaluasi kualitas air sungai-sungai di kawasan das brantas hulu malang dalam kaitannya dengan tata guna lahan dan aktivitas masyarakat di sekitarnya. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 1(1): 10-15.

